Journal of Agricultural Machinery

Homepage: https://jame.um.ac.ir

Research Article
Vol. 14, No. 3, 2024, p. 337-353

The Efficiency of Cold Plasma Treatment on *Aspergillus Niger* Disinfection and Quality Properties Preservation of Grapes during the Post-harvest Period

A. Khalaj[1], E. Ahmadi[2*], S. Mirzaei[3], F. Ghaemizadeh[4], R. Abbaszadeh[5]

1- MSc Student, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
2- Professor, Department of Biosystems Engineering, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamadan, Iran
5- Assistant Professor, Iranian Research Organization for Science and Technology, Tehran, Iran
(*- Corresponding Author Email: eahmadi@basu.ac.ir)

Received: 21 September 2023
Revised: 21 October 2023
Accepted: 04 November 2023
Available Online: 01 September 2024

How to cite this article:
Khalaj, A., Ahmadi, E., Mirzaei, S., Ghaemizadeh, F., & Abbaszadeh, R. (2024). The Efficiency of Cold Plasma Treatment on Aspergillus Niger Disinfection and Quality Properties Preservation of Grapes during the Post-harvest Period. *Journal of Agricultural Machinery, 14*(3), 337-353. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jam.2023.84550.1191

Introduction

Grape is a major horticultural crop with a high nutritional value in the world. The optimal geographic and climatic conditions in Iran have positioned it as one of the most important regions for grape cultivation in the world. Black rot, caused by *Aspergillus niger*, is a highly destructive fungal disease that affects the grapes by targeting wounded areas. It causes crushing of the grapes, the falling of berries, and reduces transportation and storage properties (Ponsone *et al.*, 2011). Various methods, such as fumigating bunches with sulfur dioxide and storing them in a modified atmosphere, have been used to control fungal rot and prolong the shelf life of grapes. However, each method has its limitations. Grape fumigation with sulfur gas is harmful to human health (Duarte-Sierra *et al.*, 2016) and the efficiency of modified atmospheric storage on rot control and maintaining the quality of grapes depends on the type of variety, storage temperature, and especially gas concentration (Himelrick, 2003).

Given the lack of efficiency in traditional methods, it is imperative to introduce modern techniques that can effectively disinfect microorganisms. These advanced methods offer several advantages, including the preservation of crop quality, an increase in crop shelf life, the promotion of good health, and substantial economic benefits. A technique of this type includes using non-thermal (cold) plasma (NTP) technology to eliminate food microorganisms (Bourke *et al.*, 2018). The effect of cold plasma at atmospheric pressure on the reduction of bacterial populations in food products such as lettuce, tomato, strawberry, and cherry tomato has been reported (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2013; Pasquali *et al.*, 2016; Ziuzina *et al.*, 2014). Research has shown that cold plasma can effectively inactivate *Aspergillus* in various orchard and agricultural products (Butscher *et al.*, 2016; Ghorashi *et al.*, 2020; Selcuk *et al.*, 2008). The effect of cold plasma on the quality characteristics of the product during the post-harvest period has also been investigated. Blueberries treated with cold plasma for less than 15 minutes showed remarkable results: after 10 days, the fruit exhibited reduced lipid peroxidation and darkening, with no impact on the total anthocyanin content, pH, or firmness of the product (Hu *et al.*, 2021). In a study by Rana et al. (2020), it was found that subjecting strawberries to 15 minutes of cold plasma with packaging after 5 days of storage at 25°C had no significant impact on pH, TSS, and moisture content of the fruit.

The review of the literature reveals the absence of research on fungal disease control and grape quality

https://doi.org/10.22067/jam.2023.84550.1191

evaluation following the use of NTP. This study aims to investigate the efficiency of plasma treatment in reducing the infection with *Aspergillus* fungi, along with examining the physical, chemical, and mechanical properties of Fakhri grape.

Materials and Methods

This research was conducted as a completely randomized design in a factorial experiment at four plasma levels (0, 10, 20, and 40 s) and five storage periods (1, 2, 3, 4, and 5 weeks) with three replications at 4°C. A plasma generator was first designed and manufactured in this study. A specifically designed and fabricated plasma application probe was also developed for grape berries. The individual grape berries were then sterilized with 1% sodium hypochlorite under a laminar hood for 2 minutes. Afterward, they were rinsed three times with sterile distilled water to remove any remaining disinfectant residue from their surfaces. Sterilized berries were immersed in *Aspergillus* spore suspension with 105 spores.ml^{-1} concentration. Finally, all samples were dried on paper filters and prepared for different plasma treatment durations (0, 10, 20, and 40 s). The treated samples were stored at 4°C, and the infection percentage and microbial load were measured on a weekly basis. To assess the preservation quality, chemical parameters such as pH, TSS, and TA, physical parameters (color change and weight loss), and mechanical properties were measured every week. Additionally, thermal imaging was performed weekly.

Results and Discussion

Plasma application during storage significantly reduced the infection percentage and microbial load in *Aspergillus*-inoculated samples. At the end of the storage period, the infection percentage and microbial load in the 40-second plasma treatment were 5% and 2.5 CFU g^{-1} respectively, while in the control group, the infection percentage was 100% and the microbial load was 4 CFU g^{-1}. At the end of the storage period, the lowest pH level in the plasma was observed for 40 s plasma. This could be attributed to effective contamination control, as fungal contamination leads to alkalization of the environment. The highest amount of TSS was also observed in control and 40 s plasma. But in the 10 and 20 s plasma treatment, the process of changes was gradual and not significant. The higher TSS level of control and 40 s plasma can be due to the weight loss caused by the spread of contamination and moisture leakage caused by damage to the tissue. This decrease in moisture leads to an apparent increase in the TSS index. Research has shown that plasma primarily affects the surface characteristics of products, and when applied with the appropriate voltage and duration, it does not alter the internal chemical properties (Hu *et al.*, 2021). Over time, weight loss increased in all treatments. This increasing trend during the storage period is higher in control and 40 s plasma compared to 10 and 20 s plasma. Therefore, the weight loss in the control can be due to the spread of contamination and aging of the product over time. However, the weight loss in the 40-second plasma treatment can be due to the destruction of the fruit tissue caused by longer duration of the plasma application.

In the current research, by increasing the duration of plasma application to 40 s, a significant decrease in L*, a*, and b* indices and an overall change in the color of the product was observed. Research shows that in blueberries, inappropriate duration of plasma treatment causes the loss of wax on the fruit surface and leads to darkening of the product (Hu *et al.*, 2021). The highest and lowest changes in temperature drop were observed in the control treatment (5°C) and 10 and 20 s plasma (3 and 3.5°C, respectively). According to research, an increase in fungal contamination leads to a decrease in humidity, increases weight loss, and subsequently a decrease in product temperature. A decline in mechanical characteristics was noted for the control and plasma treated samples during the storage period. The lowest value for indicators was observed in the 40 s plasma treatment. However, no significant difference was observed in samples treated with plasma for less than 20 seconds compared to the control group up to the middle of the storage period. According to a report by Misra et al. (2014), plasma application can reduce tissue softness. Therefore, optimizing its plasma duration and intensity is very important (Pan *et al.*, 2021).

Conclusion

Our experiments aimed to investigate the effect of NTP treatment on controlling *Aspergillus* infections while preserving the quality properties of Fakhri grapes. The obtained results are important for two main reasons. Firstly, an innovative probe was designed for plasma applications, specifically tailored to the shape and size of individual grapes in order to thoroughly cover them with plasma. Secondly, application of plasma was carried out for the first time and yielded valuable results, indicating that this technique can control fungal infections and preserve the chemical, physical, and mechanical properties of grapes.

Keywords: Chemical properties, Cold plasma, Mechanical properties, Microbial load, Physical properties

نشریه ماشین‌های کشاورزی
https://jame.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۱٤، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۳، ص ۳۵۳-۳۳۷

بررسی کارایی پلاسمای سرد بر غیرفعال‌سازی قارچ *آسپرژیلوس نایجر* و حفظ ویژگی‌های کیفی انگور طی دوران پس از برداشت

علی خلج[1]، ابراهیم احمدی[2]*، سهیلا میرزائی[3]، فهیمه قائمی زاده[4]، روزبه عباس‌زاده[5]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۳۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۱۳

چکیده

کپک سیاه حاصل از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* یکی از زیان‌بارترین بیماری‌های پس از برداشت انگور است. پلاسمای سرد در فشار اتمسفر، یک روش نوین به‌منظور میکروب‌زدایی از محصولات کشاورزی طی دوران پس از برداشت محصول می‌باشد. از این رو هدف از انجام این تحقیق بررسی تاثیر سطوح مختلف پلاسمای سرد در فشار اتمسفر (با مدت زمان صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) بر نرخ پوسیدگی کپک سیاه و بار میکروبی همراه با برخی از پارامترهای کیفی انگور (*Vitic vinifera*) تلقیح‌شده با قارچ *آسپرژیلوس نایجر* طی انبارداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بود. نتایج نشان داد پلاسما به‌طور موثری باعث کاهش بار میکروبی و درصد پوسیدگی کپک سیاه طی دوران انبارداری می‌شود. بالاترین میزان میکروب‌زدایی در پلاسما ۴۰ ثانیه صورت گرفت. برای پارامترهای کیفی پس از برداشت، پلاسمای کمتر از ۴۰ ثانیه (۱۰ و ۲۰ ثانیه) حداقل تاثیر را در شاخص‌های شیمیایی (pH، TSS و TA)، دمای محصول، شاخص‌های رنگ‌سنجی، تغییر رنگ، افت وزن، شاخص‌های مکانیکی و در نهایت سفتی بافت در انتهای دوره انبارداری داشت. بالاترین تغییرات در خواص شیمیایی، مکانیکی و فیزیکی انگور در انتهای انبارداری و در پلاسما ۴۰ ثانیه به دلیل آسیب به بافت به‌ویژه در محل دم میوه صورت گرفت. در کل به نظر می‌رسد تیمارهای کوتاه‌مدت پلاسما بتواند راهکار مناسبی هم‌زمان برای کاهش پوسیدگی‌های قارچی همراه با حفظ پارامترهای کیفی انگور و طی دوره نگهداری باشد.

واژه‌های کلیدی: بار میکروبی، پلاسمای سرد، خواص فیزیکی، خواص شیمیایی، خواص مکانیکی

مقدمه

انگور تازه‌خوری یک محصول مهم باغبانی و با ارزش اقتصادی بالا در دنیا می‌باشد. انگور غنی از مواد معدنی، ویتامین، کربوهیدرات و آنتی‌اکسیدان بوده و در سرتاسر دنیا و با اهداف مختلف کشت می‌شود (Pezzuto, 2008). ایران نیز به علت برخورداری از شرایط جغرافیایی و اقلیمی مناسب برای کشت و پرورش انگور، یکی از عمده‌ترین تولیدکنندگان این محصول در دنیا است. میزان تولید و سطح زیر کشت انگور در سال ۱۳۹۹ در ایران به‌ترتیب ۱۸۸۸۸۰۲تن و ۱۴۶۹۲۷ هکتار بوده است (Fao, 2021).

به دلیل ماهیت فیزیولوژیکی انگور نظیر پوست نازک، بافت گوشتی و آبدار، اسیدیته پایین و ترکیبات غذایی بالا، این گیاه مستعد حمله پاتوژن‌ها و به‌ویژه قارچ‌ها می‌باشد (Meng, Qin, & Tian, 2010). به طوری‌که پوسیدگی‌های قارچی نظیر گونه‌های مختلف جنس آسپرژیلوس[5] از مهم‌ترین عوامل تلفات پس از برداشت و زیان اقتصادی در انگور است (Kasfi, Taheri, Jafarpour, & Tarighi,

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۲- استاد گروه مهندسی بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۴- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران
۵- استادیار سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: eahmadi@basu.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jam.2023.84550.1191

5- *Aspergillus*

2018). *آسپرژیلوس نایجر*[6] یکی از گونه‌های مخرب این جنس بوده و از نواحی زخمی میوه حمله کرده و منجر به پوسیدگی سیاه در سطح آن می‌شود (Ponsone, Chiotta, Combina, Dalcero, & Chulze, 2011). علائم ظهور بیماری در زمان رسیدگی میوه به علت بالا بودن میزان قند افزایش می‌یابد. گسترش بیماری منجر به از دست رفتن آب، لهیدگی و ریزش حبه‌ها شده و قابلیت حمل و نقل و انبارداری را کاهش می‌دهد (Zahavi *et al.*, 2000). گونه‌های مختلف این جنس مایکوتوکسین نیز تولید می‌کنند که برای انسان بسیار سمی است (Arfaoui *et al.*, 2019).

تاکنون از روش‌های مختلفی به منظور کنترل پوسیدگی قارچی و افزایش ماندگاری انگور استفاده شده است. اما هر یک دارای محدودیت‌هایی می‌باشند. تدخین خوشه‌های انگور با دی‌اکسید گوگرد و استفاده از قارچ‌کش‌ها به‌طور موثری باعث کنترل پوسیدگی‌های قارچی در انگور می‌شود، اما کاربرد دی‌اکسید گوگرد باعث کاهش کیفیت و طعم نامناسب محصول شده و بقایای آن به‌صورت لکه‌های سفید روی میوه باقی می‌ماند (Duarte-Sierra *et al.*, 2016; Gabler & Smilanick, 2001; Lu, Yang, Li, Shen, & Ma, 2013). استفاده مداوم از قارچ‌کش‌ها نیز باعث ایجاد مقاومت به آن‌ها شده و کارایی استفاده از قارچ‌کش را کاهش داده است (Oliver & Hewitt, 2014). در مجموع به دلیل اثرات زیست‌محیطی و تاثیرات منفی بر سلامت انسان استفاده از روش‌های شیمیایی به‌ویژه در مورد انگور تازه‌خوری بسیار محدود شده است (De Simone *et al.*, 2020).

کارایی استفاده از انبار با اتمسفر تعدیل‌یافته و بسته‌بندی در اتمسفر تعدیل‌یافته بر کنترل پوسیدگی و حفظ کیفیت انگور به نوع رقم، دمای نگهداری و به‌ویژه غلظت گاز بستگی دارد (Himelrick, 2003; Sanchez-Ballesta, Alvarez, Escribano, Merodio, & Romero, 2020). گاز CO_2 در کنترل پوسیدگی‌های قارچی موثر است اما غلظت بالای ۱۰ درصد CO_2 باعث کاهش کیفیت طعم و قهوه‌ای شدن خوشه و حبه می‌شود (Crisosto, 2002; De Simone *et al.*, 2020). روش‌های پوشش‌دهی و فیلم‌های بسته‌بندی نیز دارای مشکلاتی نظیر ناپایداری، تخریب آسان و خاصیت هیدروفیلی بالای ترکیبات می‌باشند (Olivas & Barbosa-Canovas, 2009).

در نهایت ارایه روش‌های نوین که ضمن مقابله با میکروارگانیسم‌ها منجر به حفظ کیفیت محصول طی دوره انبارداری شده، حافظ سلامتی انسان بوده و صرفه اقتصادی بالا نیز داشته باشد، بسیار کارآمد خواهد بود. از جمله این روش‌ها می‌توان به تکنولوژی استفاده از پلاسمای غیر حرارتی (پلاسمای سرد) جهت حذف میکروارگانیسم‌های غذایی اشاره کرد (Bourke, Ziuzina, Boehm, Cullen, & Keener, 2018). سودمندی استفاده از این تکنیک در میکروب‌زدایی رنج وسیعی از میکروارگانیزم‌ها و در بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات، آب‌میوه و خشکبار مشخص شده است (Wiktor *et al.*, 2020). تاثیر پلاسمای سرد در فشار اتمسفر بر کاهش جمعیت باکتری در محصولاتی نظیر کاهو، گوجه‌فرنگی، توت‌فرنگی و گوجه گیلاسی گزارش شده است (Bermúdez-Aguirre, Wemlinger, Pedrow, Barbosa-Cánovas, & Garcia-Perez, 2013; Pasquali *et al.*, 2016; Ziuzina *et al.*, 2014). همچنین تحقیقات نشان داده است پلاسمای سرد بر غیرفعال‌سازی *آسپرژیلوس* در برخی از محصولات باغی و زراعی (Selcuk, Oksuz, & Basaran, 2008; Butscher, Zimmermann, Schuppler, & Von Rohr, 2016) و کاهش مخمر و پوسیدگی ناشی از *بوتریتیس*[2] در برخی گیاهان باغی موثر بوده است (Dong & Yang, 2019; Rana, Mehta, Bansal, Shivhare, & Yadav, 2020).

تاثیر پلاسمای سرد بر ویژگی‌های کیفی محصول طی دوره پس از برداشت نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در بلوبری پلاسمای سرد به مدت زمان کمتر از ۱۵ دقیقه و پس از ۱۰ روز باعث تیرگی میوه و کاهش پروکسیداسیون[3] لیپید شده اما تاثیری بر محتوای آنتوسیانین کل، pH و سفتی محصول نداشته است (Hu *et al.*, 2021). در توت‌فرنگی نیز ۱۵ دقیقه پلاسمای سرد همراه با بسته‌بندی پس از ۵ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بر میزان pH، TSS و محتوای رطوبت میوه تاثیری نداشته است (Rana *et al.*, 2020).

تاکنون کارایی پلاسمای سرد بر کنترل پوسیدگی سیاه حاصل قارچ *آسپرژیلوس نایجر* همراه با حفظ ویژگی‌های کیفی انگور مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به این‌که پوسیدگی سیاه یکی از مهم‌ترین عوامل فساد و زیان اقتصادی در انگور می‌باشد، این پژوهش با هدف بررسی تاثیر سطوح مختلف پلاسما سرد بر کاهش میزان آلودگی به قارچ *آسپرژیلوس نایجر* همراه با بررسی خواص فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی طی دوره پس از برداشت در انگور رقم فخری انجام شد.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی انگور و تلقیح مصنوعی با سوسپانسیون اسپور قارچ

انگور رقم فخری از باغات استان همدان برداشت و در سردخانه با دمای یک درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شدند. سپس

6- *Niger*

2- *Botrytis*

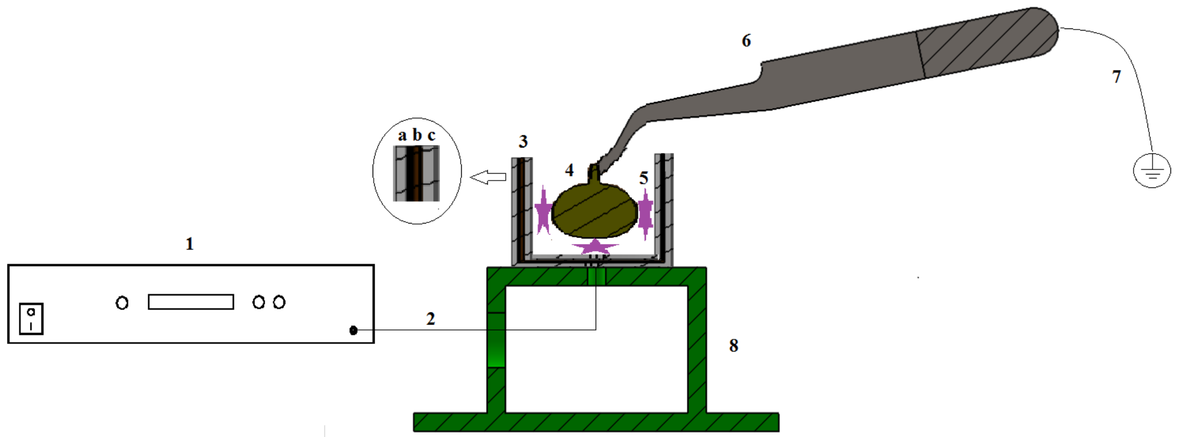
3- Lipid peroxidation

خوشه‌های یکنواخت از نظر رنگ، سایز و بلوغ و بدون نشانه‌هایی از آسیب مکانیکی و پوسیدگی قارچی انتخاب شدند. ابتدا خوشه‌های سالم به مدت یک دقیقه با آب جاری شسته و حبه‌های انگور بدون هرگونه آسیب به بافت آن به همراه دم میوه جدا شدند. حبه‌های انگور زیر هود لامینار به مدت ۲ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱ درصد، استریل و به‌منظور حذف باقی‌مانده ماده ضدعفونی‌کننده از سطح حبه‌ها سه بار آبشویی با آب مقطر استریل انجام شد. نمونه‌های استریل‌شده پس از آبشویی با استفاده از کاغذ صافی استریل زیر هود لامینار خشک و در سوسپانسیون اسپور قارچ *آسپرژیلوس* با غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر غوطه‌ور شدند. در نهایت نمونه‌ها روی کاغذ صافی استریل خشک و تحت تیمار پلاسما قرار گرفتند (Hu *et al.*, 2021).

تیمار پلاسما

طراحی و ساخت دستگاه مولد پلاسما

در این تحقیق دستگاه مولد پلاسما و پروب اختصاصی برای اعمال پلاسما روی حبه انگور طراحی و ساخته شد (شکل ۱) ساختار الکترودی پروب شامل یک استوانه‌ی شیشه‌ای (دی‌الکتریک) به قطر ۲۰ میلی‌متر بود که جدار بیرونی آن با یک ورقه مسی پیچیده شد. الکترود دوم نیز یک پنس فلزی بودکه با یک سیم به زمین متصل گردید. از این پنس به‌منظور نگهداری حبه انگور در استوانه شیشه‌ای و اعمال پلاسما استفاده شد.



شکل ۱– تصویر شماتیکی از منبع مولد پلاسما و پروب طراحی‌شده در آزمایشگاه بیوسیستم (دانشگاه بوعلی سینا): ۱– پاور، ۲– سیم انتقال پلاسما، ۳– پروب شامل دی‌الکتریک (a و c) و الکترود مس (b)، ۴– نمونه انگور، ۵– پلاسما با ستاره نشان داده شده است، ۶– الکترود دوم برای تخلیه پلاسما، ۷– سیم اتصال به زمین، ۸– پایه

Fig.1. Schematic diagram of the cold plasma source and probe designed at the Institute of Biosystems lab (Bu-Ali Sina University, Iran): 1- Power supply, 2- Wire transfer plasma, 3- Probe consisting of dielectric (a and c) and copper electrode (b), 4- Grape sample, 5- Plasma showed by stars, 6- Second electrode for plasma discharge, 7- Earth wire, and 8- Stand

تیمار نمونه‌ها با پلاسما

اعمال تیمار پلاسما با ولتاژ ۱۰ کیلوولت و با فرکانس ۸/۴ کیلوهرتز در چهار سطح صفر (عدم پلاسما)، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه در شرایط تقریبا استریل انجام گرفت. به‌منظور کنترل آلودگی‌های ثانویه دستگاه مولد پلاسما، ظروف نگهداری نمونه‌ها و پنس با استفاده از اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شده و اعمال پلاسما زیر هود ضدعفونی‌شده انجام گرفت. به‌منظور جلوگیری از تماس حبه‌های تیمارشده با یکدیگر و گسترش آلودگی، صفحه مشبکی از جنس پلکسی ساخته و در ظروف شفاف قرار داده شدند. سپس حبه‌ها داخل این فضاهای مشبک قرار گرفته و در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ارزیابی صفات نیز هر هفته یک بار و برای ۳۵ روز انجام شد.

بار میکروبی و پوسیدگی ظاهری انگور

برای محاسبه بار میکروبی در هر مرحله از نمونه‌برداری سه حبه انگور از هر تیمار جدا و در یک فالکون حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل هموژنیزه شدند. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول هموژنیزه‌شده به‌آرامی در سطح پتری حاوی محیط سیب‌زمینی–دکستروز– آگار پخش شد. به دنبال آن نمونه‌ها در دمای ۲۲–۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و محاسبه تعداد کلونی‌ها پس از ۱۲

ساعت صورت گرفت. در نهایت تعداد کلونی‌های تشکیل‌شده[1] در محیط کشت شمارش و بار میکروبی بر اساس رابطه (۱) محاسبه گردید (Hu *et al.*, 2021).

Microbial load= Log (100**number of colonies*/3) (۱)

به‌منظور محاسبه میزان پوسیدگی (٪) هر هفته شکل ظاهری حبه‌ها بررسی و میزان آن بر اساس رابطه (۲) در هر تیمار محاسبه گردید (Hu *et al.*, 2020).

Infection percentage= (N2/N1)*100 (۲)

N1= تعداد کل حبه‌های مورد بررسی، N2= تعداد حبه‌های آلوده

ارزیابی کیفی انگور

خواص فیزیکی (کاهش وزن، رنگ ظاهری میوه)

کاهش وزن میوه با توزین میوه‌های ثابت در آغاز آزمایش و اندازه‌گیری مجدد در هر دوره ارزیابی صفت و با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ تعیین شد، سپس درصد کاهش وزن با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید (Ahmadi & Khodamoradi, 2020).

Weight loss percentage= (*W1-W2*)/*W1**100 (۳)

W1= وزن میوه قبل از انبار کردن، W2= وزن میوه در مراحل انبار کردن

رنگ ظاهری حبه انگور با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج دیجیتالی مدل hp-200 ساخت کشور چین و بر اساس روش L.a.b ارزیابی شد. بدین منظور تعداد ۳ نمونه از هر تیمار به‌طور تصادفی انتخاب، شماره‌گذاری و رنگ‌سنجی شد. سپس مقادیر L، a و b به‌دست‌آمده از دستگاه ثبت و مقدار ΔE (اختلاف رنگ) از رابطه (۴) محاسبه گردید (Ahmadi & Khodamoradi, 2020).

$$\Delta E = \sqrt{\mathbf{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}} \quad (۴)$$

ΔL تغییرات روشنایی، Δa تغییرات رنگ قرمز-سبز و Δb تغییرات رنگ زرد-آبی.

خواص مکانیکی

برای ارزیابی خواص مکانیکی انگور از آزمون پانچری و دستگاه تست مواد غذایی Zowick/roell مدل Bbt1-Fro.5th.D14 ساخت کشور آلمان استفاده شد. بدین منظور از پروب مسطح به قطر ۵ میلی‌متر با سرعت ۳۰۰ میلی‌متر بر دقیقه برای انجام این تست استفاده گردید. بدین صورت که پروب تا عمق معین (۱۵ درصد قطر نمونه) به درون نمونه‌ها نفوذ کرده و نمودار نیرو-جابه‌جایی توسط دستگاه ثبت گردید. در هر آزمایش مدول الاستیسیته، تغییرات نیروی نفوذ و انرژی آن اندازه‌گیری شد.

تصویربرداری حرارتی

دمای سطح انگور طی دوره نگهداری با استفاده از یک سیستم بررسی دمای مادون قرمز متشکل از یک دوربین حرارتی (FLIR T420، آمریکا) اندازه‌گیری شد. همچنین به‌منظور کنترل نواسانات محیطی تمامی عکس‌ها در ساعت یکسانی از روز و در شرایط ثابت دستگاه (میزان نور یکسان، پشت‌زمینه ثابت و آزمایشگر ثابت) در دمای ۰/۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد گرفته شد. مشخصات دوربین مورد استفاده به شرح زیر بود.

میدان دید: ۱۹°*۲۰، حساسیت حرارتی: < دمای ۰/۰۴۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد، نرخ فریم: ۶۰ هرتز، فاصله کانونی: ۵/۷ تا ۱۳ میکرومتر، صفحه نمایشگر: ۳/۵ اینچ

خواص شیمیایی (TSS، pH و TA)

مواد جامد محلول با رفراکتومتر آتاگو مدل PAL-2 ساخت ژاپن و بر حسب درجه بریکس در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و pH آب‌میوه با استفاده از دستگاه pH متر مدل PHS3-W3B ساخت ایتالیا و با دقت ۰/۰۱ اندازه‌گیری شد. میزان اسید کل میوه با روش تیتراسیون اندازه‌گیری شد . برای این منظور ۲ میلی‌لیتر از آب‌میوه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر همگن و با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به پی‌اچ ۰/۱±۸/۲ تیتر شد. اسید قابل تیتراسیون با استفاده از رابطه (۵) محاسبه و مقدار آن بر حسب درصد اسید غالب میوه (اسید سیتریک) بیان شد.

$$C=(N.V_b\ .E/V_j)\times 0.1, \quad (۵)$$

C اسید کل میوه بر حسب میلی‌گرم در ۱۰۰میلی‌لیتر، N نرمالیته سود مصرفی، Vb حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر)، E وزن اکی والان اسید سیتریک (۶۴)، VJ حجم نمونه آب میوه (میلی‌لیتر)

آنالیز آماری

تمامی آزمایش‌ها به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با آزمون آنوا و مقایسه میانگین با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت گرفت.

نتایج و بحث

محاسبه بار میکروبی و پوسیدگی سیاه در انگور

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در جدول ۱، اثر متقابل سطوح مختلف پلاسما و مدت زمان انبارداری بر بارمیکروبی و درصد پوسیدگی قارچی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. در مدت زمان بار

1- Colony forming units (CFU)

میکروبی در هفته اول از ۲/۵ و ۲ log CFUg-1 به‌ترتیب در پلاسما ۰ و ۱۰ ثانیه، و به صفر log CFUg-1 در پلاسمای ۲۰ و ۴۰ ثانیه کاهش یافت. با گذشت مدت زمان انبارمانی بار میکروبی در شاهد و تیمار پلاسما افزایش یافت و در هفته ۴ و ۵ انبارداری به بالاترین میزان خود در شاهد (CFUg-1 ۳/ ۹log) رسید اما در تمامی زمان‌ها بار میکروبی در انگور تیمارشده با پلاسما کمتر از شاهد بود (شکل ۲-a).

جدول ۱– نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) و مدت زمان نگهداری (۱تا ۵ هفته) بر درصد پوسیدگی قارچی و بارمیکروبی در انگور تلقیح‌شده با قارچ *آسپرژیلوس نایجر*

Table 1- Variance analysis of the effect of plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) and storage time (1- 5 weeks) on microbial load and fungal decay percentage of grape inoculated with *Aspergillus Niger*

	Average of squares میانگین مربعات			
منابع تغییرات Source of variation	**درجه آزادی Degree of freedom**	**درصد پوسیدگی قارچی Fungal decay**	**درجه آزادی Degree of freedom**	**بار میکروبی Microbial load**
سطوح پلاسما Plasma	3	8420**	3	25.2**
دوره نگهداری Storage	4	4380**	5	9.93**
سطوح پلاسما * دوره نگهداری Plasma*Storage	12	8811**	15	0.7**
اشتباه آزمایشی Error	40	0.6	48	0.03
ضریب تغییر (درصد) (CV)		9.3		10.6

** معنی‌دار در سطح ۱ درصد. ** Significant at 1% level

مقایسه بین مدت زمان پلاسما نیز نشان داد که در پلاسما ۲۰ و ۴۰ ثانیه (بیشتر از ۱۰ ثانیه) تا هفته دوم بار میکروبی صفر log CFUg-1 بود. همچنین کمترین میزان بار میکروبی طی دوره انبارداری در پلاسما ۴۰ ثانیه مشاهده شد که گواه بر تاثیر افزایش مدت زمان پلاسما بر تاخیر بروز علایم بیماری و کاهش بار میکروبی می‌باشد (شکل ۲-a). در مجموع نتایج حاصل در این تحقیق کارآمدی تیمار پلاسما بر کنترل آلودگی میکروبی انگور پس از ۵ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد.

همان‌طور که در شکل ۲-b نشان داده شده است. پلاسما باعث کاهش درصد پوسیدگی میوه در مقایسه با شاهد شد. در شاهد و تیمار پلاسما با گذشت زمان درصد آلودگی افزایش یافت، اما در تیمار پلاسما به‌ویژه ۴۰ ثانیه درصد آلودگی در تمامی زمان‌ها از شاهد و سایر زمان‌های پلاسما کمتر بود. در انتهای دوره آزمایش درصد آلودگی در پلاسما ۴۰ ثانیه ۶/۵ درصد و پلاسما ۲۰ ثانیه ۲۰ درصد بود در حالی‌که در شاهد از هفته ۴ و ۵ به ۱۰۰ درصد رسید. همچنین ظهور علایم در شاهد و پلاسما ۱۰ ثانیه به‌ترتیب از هفته اول و دوم مشخص شد. در حالی‌که در پلاسما ۳۰ و ۴۰ ثانیه از هفته سوم مشاهده شد. در شکل ۳ تصویر فیزیکی انگورهای تیمارشده با پلاسما و شاهد و گسترش کپک سیاه ناشی از آسپرژیلوس بر روی انگور به‌خوبی نشان داده شده است. همچنین عدم وجود قارچ در نمونه‌های تیمارشده با پلاسما نیز تاییدی بر کنترل آلودگی و بار میکروبی میوه می‌باشد.

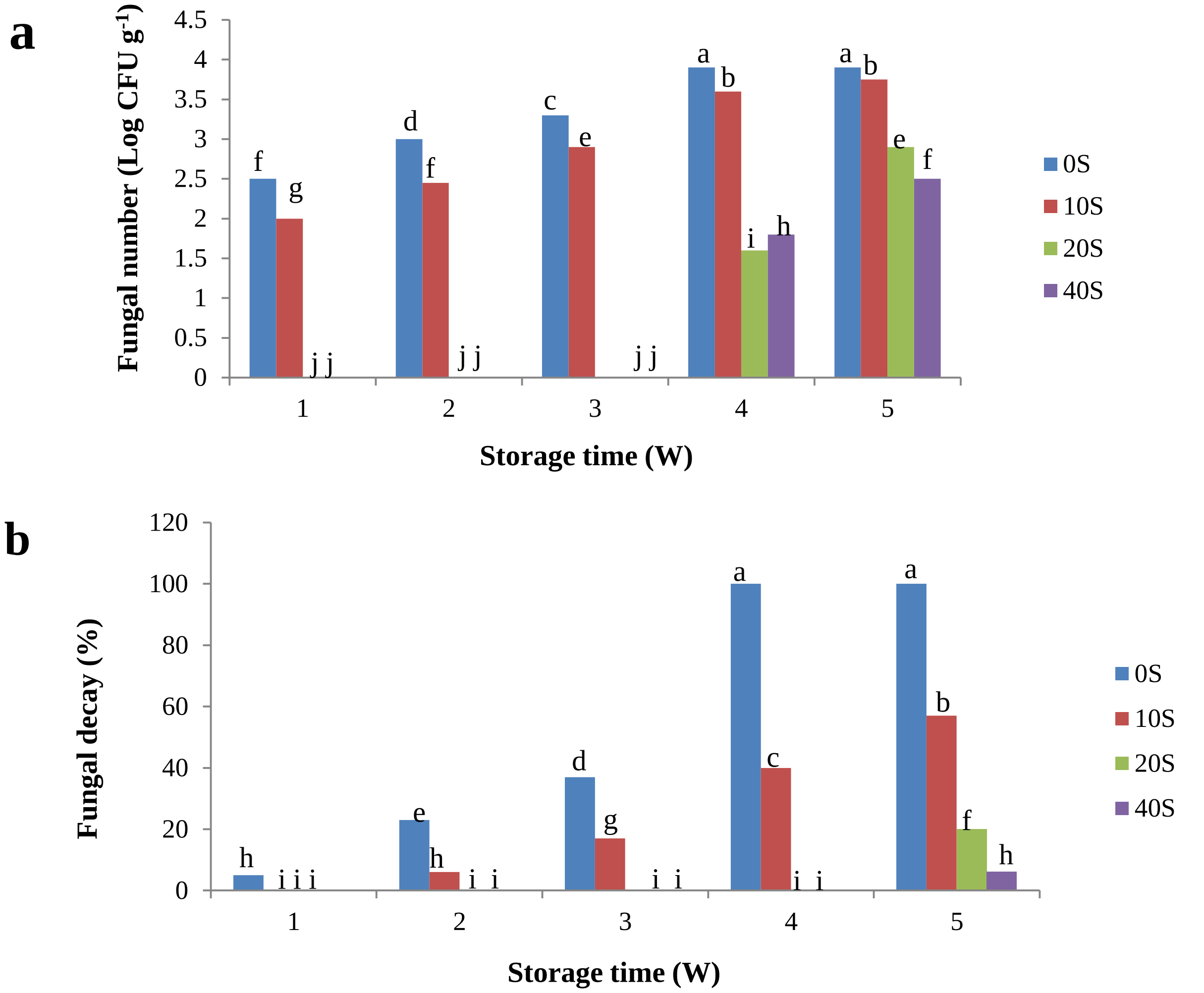
تاثیر تیمار پلاسما در کنترل بیماری‌های قارچی و باکتریایی و در بسیاری از محصولات کشاورزی بررسی شده است. بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته، کاربرد پلاسمای سرد در شرایط اتمسفری در میوه توت فرنگی، سیکل لگاریتمی باکتری کل، کپک و مخمر را کاهش داده است (Misra, Keener, Bourke, Mosnier, & Cullen, 2014) و در کاهو و سیب‌زمینی باعث کاهش سیکل لگاریتمی باکتری سالمونلا[1] شد (Fernandez, Noriega, & Thompson, 2013). بر اساس گزارش پاسکوالی و همکاران (Pasquali *et al.*, 2016) کاربرد پلاسمای سرد بر سبزیجات برگی نظیر شیکوره قرمز نیز بدون تاثیر بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی محصول به‌طور قابل‌توجهی باعث کاهش بار میکروبی محصول می‌گردد. در بلوبری تیمار پلاسمای سرد منجر به از بین رفتن مخمر، کاهش بار میکروبی قارچ و پوسیدگی خاکستری ناشی از بوتریتیس شد (Dong &Yang, 2019; Lacombe *et al.*, 2015; Rana *et al.*, 2020). تاثیر پلاسما بر غیرفعال‌سازی اسپور قارچ آسپرژیلوس در پسته، غلات و لگوم نیز موثر بوده است (Ghorashi, Tasouji, & Kargarian, 2020; Ott, Appleton, Shi, Keener, & Mellata, 2021; Selcuk *et al.*, 2008).

بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته عامل اصلی خاصیت ضدمیکروبی تیمار پلاسمای سرد در فشار اتمسفر وجود انواع RONS[2] می‌باشد که به هنگام فرایند تخلیه بار الکتریکی هنگام تولید پلاسما تولید می‌شوند (Hu *et al.*, 2021). RONS از طریق ایجاد تنش‌های اکسیداتیو[3] در سلول‌ها منجر به آسیب‌های اکسیداتیو

1- Salmonella
2- Reactive oxygen and nitrogen species
3- Oxidative

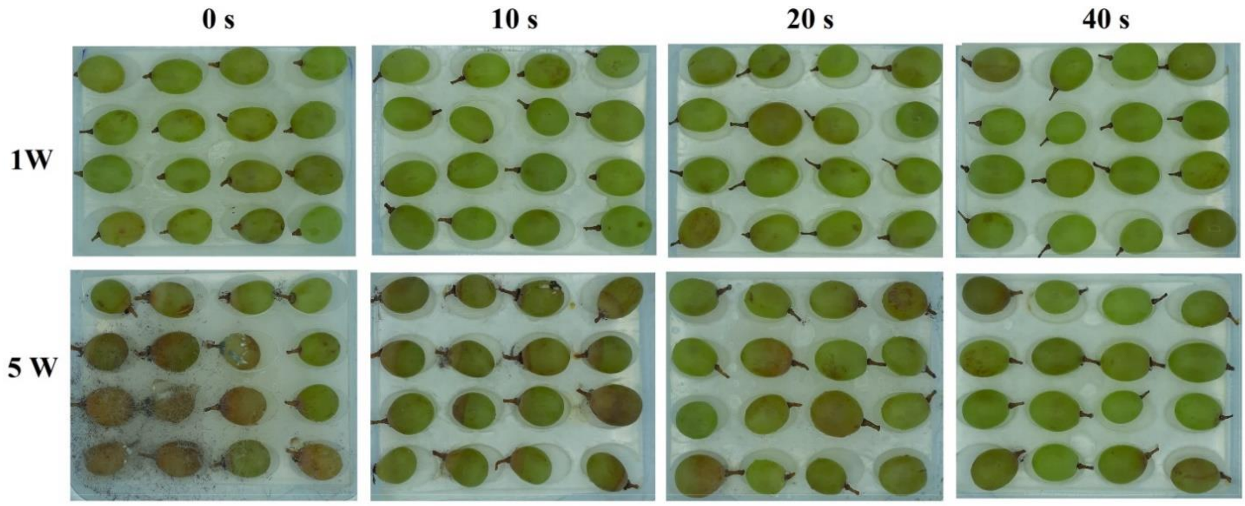
در غشا سلولی و اجزای درون‌سلولی میکروارگانیزم و در نهایت مرگ سلول آن‌ها می‌شوند (Dobrynin, Fridman, Friedman, & Fridman, 2009; Ma *et al.*, 2016; Xu *et al.*, 2020). از سوی دیگر پلاسمای سرد با تخریب DNA و اکسیداسیون گوانین منجر به نابودی میکروارگانیزم نیز می‌شود (Rana *et al.*, 2020).

در پژوهش حاضر نیز پلاسما به‌صورت موثری بار میکروبی قارچ آسپرژیلوس و همچنین نرخ پوسیدگی در انگور تلقیح‌شده با اسپور قارچ *آسپرژیلوس نایجر* را کاهش داد، که می‌تواند به دلیل تاثیر RONS باشد. همچنین بیشترین تاثیر بر کنترل *آسپرژیلوس نایجر* در تیمار پلاسما ۴۰ ثانیه مشاهده شد، که با نتایج سایر محققان مبنی بر تاثیر افزایش مدت زمان پلاسما بر کنترل بار میکروبی مطابقت دارد (Hu *et al.*, 2021; Rana *et al.*, 2020).



شکل ۲- تاثیر تیمار پلاسما سرد (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) بر تعداد قارچ (a) و درصد پوسیدگی قارچی (b) در انگور تلقیح‌شده با قارچ *آسپرژیلوس نایجر* طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. اعداد میانگین ۳ تکرار می‌باشند. حروف a تا h نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای مختلف پلاسما طی دوره نگهداری می‌باشند.

Fig.2. Effective inhibition of fungal number and decay percentage of grapes inoculated with *Aspergillus Niger* by cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage at 4°C. (a) Fungal count and (b) Fugal decay (%) of treated grapes. Values are the mean value of three replications. Columns labeled with different letters (a-h) indicate significant differences among different cold plasma treatments during storage time ($P \leq 0.05$).



شکل ۳- تصاویر انگور تیمارشده با پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) در هفته اول و پنجم دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

Fig.3. Images of grape with cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage (1 and 5 weeks) at 4°C

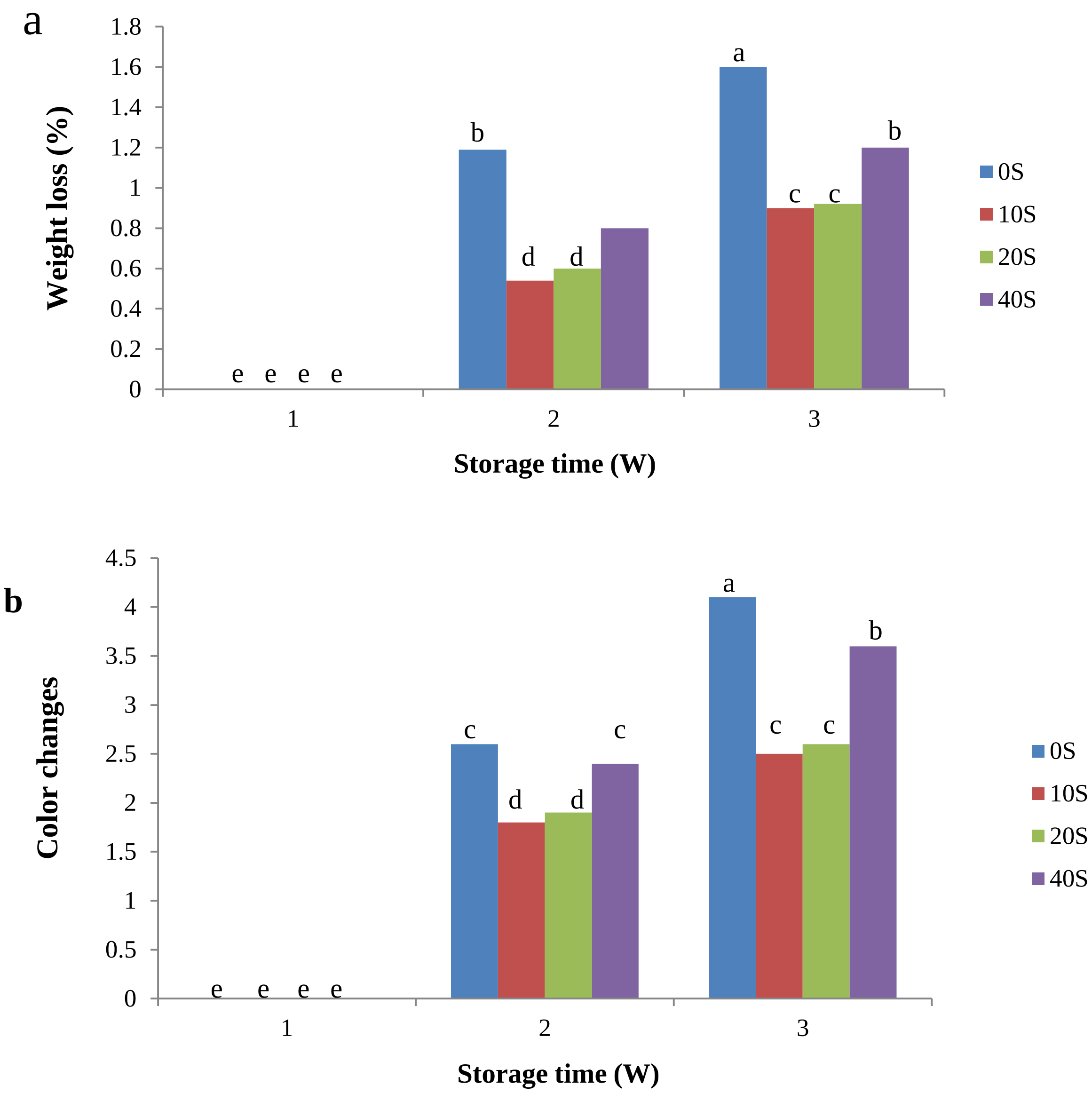
تاثیر پلاسما سرد بر خواص فیزیکی انگور

علاوه بر کنترل بیماری بر اساس شکل ۴ -a با گذشت زمان افت وزن در تمامی تیمارها افزایش یافت. بالاترین افت وزن در انتهای دوره در نمونه شاهد (۱/۶ درصد) مشاهده شد. در مقایسه بین زمان‌های مختلف پلاسما تا هفته دوم تفاوت معنی‌داری در افت وزن مشاهده نشد اما در هفته سوم بیشترین میزان افت وزن در پلاسما ۴۰ ثانیه رویت شد (۱/۲ درصد). در مجموع می‌توان گفت که این روند افزایشی طی دوره نگهداری در نمونه‌های شاهد و پلاسمای ۴۰ ثانیه در مقایسه با پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه بالاتر است. محتوای آب درونی و رطوبت انگور بسیار بالاست. لذا به شرایط نگهداری دوران پس از برداشت بسیار حساس می‌باشند. آلودگی قارچی نیز افت وزن را نیز تشدید می‌کند (Lacombe *et al.*, 2015). لذا افت وزن در نمونه‌های شاهد می‌تواند به دلیل گسترش آلودگی و پیری محصول طی زمان باشد. اما افت وزن در تیمار پلاسمای ۴۰ ثانیه می‌تواند به دلیل تخریب بافت میوه ناشی از مدت زمان اعمال پلاسما و خروج رطوبت از دم میوه باشد. در تیمار ۱۰ و ۲۰ ثانیه پلاسما، درصد آلودگی در مقایسه با شاهد کمتر بود. همچنین تاثیر تخریبی پلاسما بر نمونه و در نهایت میزان افت وزن در مقایسه با پلاسمای ۴۰ ثانیه پایین‌تر است.

مین و همکاران (Min *et al.*, 2018) نشان دادند که اعمال سطوح مناسب پلاسمای سرد تاثیر معنی‌داری بر افت وزن گوجه‌فرنگی نگهداری‌شده در دمای ۱۰ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد ندارد. تیمار پلاسمای سرد در کاهو بدون تاثیر بر افت وزن محصول به‌طور قابل‌توجهی بار میکروبی را کاهش داد (Song *et al.*, 2015). در توت‌فرنگی نیز پلاسما بر درصد رطوبت میوه پس از انبارداری تاثیری نداشت (Rana *et al.*, 2020). در پژوهش حاضر نیز در هفته اول آزمایش تفاوتی در افت وزن نمونه شاهد و نمونه‌های تیمارشده با پلاسما وجود نداشت. همچنین با گذشت زمان میزان افت وزن در پلاسما ۱۰ و ۲۰ ثانیه در مقایسه با شاهد بسیار کمتر بود.

در مقایسه سطوح پلاسما به نظر می‌رسد تیمار پلاسمای ۲۰ ثانیه کارایی بالاتری داشته باشد. اگرچه درصد کنترل بیماری در این تیمار کمتر از تیمار ۴۰ ثانیه پلاسما می‌باشد، اما تاثیر کمتری بر افت وزن دارد. لذا این تیمار منجر به حفظ کیفیت محصول نیز می‌گردد.

رنگ میوه به‌عنوان یک شاخص مهم در کیفیت ظاهری انگور پس از تیمار پلاسما و طی دوره نگهداری ارزیابی شد. شاخص L^*، a^* و b^* به‌ترتیب نشان‌دهنده‌ی درجه روشنایی، رنگ سبز/قرمز و آبی/ زرد می‌باشد. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است با افزایش مدت زمان انبارداری در شاهد و تیمار پلاسما شاخص L، a و b به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند. در هفته اول آزمایش بین شاهد و تیمار پلاسما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما با گذشت زمان این روند تا حدودی تغییر کرد به طوری‌که در هفته سوم کمترین میزان شاخص L و a در شاهد و کمترین میزان شاخص b در تیمار ۴۰ ثانیه صورت گرفت (جدول ۲). مقایسه بین زمان‌های مختلف پلاسما نیز نشان داد که با گذشت زمان بیشترین کاهش در شاخص‌های رنگ‌سنجی در پلاسما ۴۰ ثانیه صورت گرفته است. بر اساس شکل b۴ شاخص تغییر رنگ طی دوره نگهداری در شاهد و در تمامی سطوح پلاسما روند افزایشی دارد. بیشترین میزان تغییر رنگ پس از ۳ هفته و در شاهد (۴/۳) مشاهده شد. در مقایسه بین زمان‌های مختلف پلاسما نیز بالاترین میزان تغییر رنگ در پلاسما ۴۰ ثانیه صورت گرفت درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه مشاهده نشد (شکل ۴-b).



شکل ٤ -تاثیر تیمار پلاسما سرد (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) بر کاهش وزن (a) و تغییرات رنگ (b) در انگور طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد. اعداد، میانگین ۳ تکرار می‌باشند. حروف a تا e نشان‌دهنده‌ی وجود تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد بین تیمارهای مختلف پلاسما طی دوره نگهداری می‌باشند.

Fig.4. (a) Weight loss and (b) color changes of grapes with cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage at 4 °C. Values are the mean value of three replications. Columns labeled with different letters (a-e) indicate significant differences among different cold plasma treatments during storage time (P≤ 0.05).

تشعشات حاصل از پلاسما قدرت انتشار و عمر کوتاهی دارند و لذا تاثیر آن‌ها عموما سطحی بوده و بر ویژگی‌های ظاهری محصول نظیر رنگ موثر می‌باشند (Xu *et al.*, 2021). همچنین شدت و مدت زمان اعمال پلاسما نیز می‌تواند بر تغییرات رنگ محصول موثر باشد.

در پژوهش حاضر قبل از گسترش پوسیدگی سیاه حاصل از آسپرژیلوس تغییر رنگ معنی‌داری در نمونه شاهد و پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه مشاهده نشد. اما به دلیل گسترش آلودگی در هفته سوم نمونه شاهد تیره‌تر شد. محققان تغییر رنگ ناشی از اعمال پلاسما را

به دلایل متفاوتی نظیر اکسیداسیون و تخریب رنگدانه‌ها توسط گونه‌های واکنش‌گر با افزایش ولتاژ و تولید ازون و رادیکال‌های هیدروکسیل تولیدشده ناشی از افزایش مدت زمان اعمال پلاسما نسبت داده‌اند (Jayasena *et al.*, 2015; Ramazzina *et al.*, 2015). در تحقیق حاضر نیز با افزایش مدت زمان اعمال پلاسما به ۴۰ ثانیه کاهش قابل‌توجهی در شاخص‌های *L، *a و *b و در نهایت تغییر رنگ محصول مشاهده شد. تحقیقات نشان می‌دهد اعمال پلاسما در مدن زمان مناسب تاثیری در شاخص‌های رنگی و تغییر رنگ گوجه‌فرنگی، کاهو و هویج و توت‌فرنگی نداشت (Bermúdez-Aguirre *et al.*, 2013; Misra *et al.*, 2014) اما در بلوبری تیمار مدت زمان نامناسب پلاسما باعث از بین رفتن واکس سطحی میوه شده و منجر به تیرگی محصول می‌گردد (Hu *et al.*, 2021; Lacombe *et al.*, 2015).

جدول ۲- تاثیر سطوح مختلف پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) بر شاخص‌های رنگ‌سنجی (L*- a* - b*) طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

Table 2- Color parameters (L*- a* - b*) of grapes with cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage at 4°C

شاخص‌های رنگ‌سنجی Color parameters	مدت زمان تیمار Treatment time (s)	مدت زمان انبارداری Storage time (Week) 1	2	3
L*	0	35.8^{ab}	34.59^{ef}	34.05^{h}
	10	36.53^{a}	35.11^{bc}	34.34^{efg}
	20	36.42^{a}	34.76^{de}	34.60^{ef}
	40	35.83^{ab}	35.14^{bc}	34.23^{g}
a*	0	-1.36^{a}	-2.15^{bc}	-2.83^{e}
	10	-1.46^{a}	-1.81^{ab}	-2.58^{cd}
	20	-1.47^{a}	-1.82^{ab}	-2.57^{cd}
	40	-1.40^{a}	-1.73^{ab}	-2.68^{d}
b*	0	15.5^{a}	13.53^{cd}	13.02^{f}
	10	15.77^{a}	14.59^{b}	13.19^{d}
	20	15.83^{a}	14.59^{b}	13.48^{cd}
	40	15.76^{a}	14.50^{b}	12.29^{e}

حروف a تا h نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Data presented as mean ± SD. Values in the same column followed by different letters (a–h) are significantly different ($P \leq 0.05$).

تاثیر پلاسما سرد بر خواص شیمیایی انگور

روش‌های کنترل بیماری به‌طور معمول اثرات منفی بر ویژگی‌های کیفی محصول دارند، از این روز تاثیر مدت زمان‌های مختلف پلاسما بر خواص شیمیایی انگور طی دوره پس از برداشت در دمای ۴ درجه مورد بررسی قرار گرفت.

بر اساس جدول ۳، در تمامی زمان‌های آزمایش تفاوت معنی‌داری در شاخص pH بین شاهد و پلاسمای کمتر از ۴۰ ثانیه مشاهده نشد اما در پلاسما۴۰ ثانیه میزان pH در مقایسه با شاهد کاهش یافت. افزایش دوره نگهداری باعث افزایش میزان pH هم در شاهد و هم در تیمار پلاسما شد. بیشترین تغییرات میزان pH در مقایسه با هفته اول در شاهد و در پلاسما ۴۰ ثانیه مشاهده شد اما در پلاسما ۱۰ و ۲۰ ثانیه روند تغییرات تدریجی بود و معنی‌دار نشد.

مقایسه میانگین اثر متقابل پلاسما طی دوره نگهداری در ارتباط با شاخص TSS نشان داد که با گذشت زمان در تمامی سطوح پلاسما میزان TSS افزایش می‌یابد (جدول ۳). بالاترین میزان TSS در تمامی دوره نگهداری در شاهد و پلاسما ۴۰ ثانیه بالاتر از پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه بود. تفاوت معنی‌داری بین پلاسما ۱۰ و ۲۰ ثانیه طی دوره نگهداری مشاهده نشد (جدول ۳). در مجموع پس از ۳ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه تفاوتی در شاخص TSS بین شاهد و پلاسما مشاهده نشد. به‌طور کلی با افزایش میزان pH و TSS طی دوره نگهداری میزان TA نیز کاهش می‌یابد. نتایج حاصل در این پژوهش نشان داد که با افزایش زمان در تمامی سطوح پلاسما میزان TA کاهش می‌یابد. در تمامی زمان‌ها کمترین میزان TA در شاهد و بیشترین TA در پلاسما ۴۰ ثانیه رویت شد (جدول ۳).

به دلیل افزایش تنفس، گسترش آلودگی و تسریع فرایند پیری، میزان pH طی دوره نگهداری در محصول به‌تدریج افزایش یافته و قلیایی می‌گردد. همچنین بالا رفتن غلظت آب‌میوه در اثر اتلاف آب و افت وزن طی دوره نگهداری منجر به افزایش TSS می‌شود (Kader & Watkins, 2000). در نهایت با افزایش TSS و pH طی دوره نگهداری میزان TA نیز کاهش می‌یابد. بر اساس

نتایج این پژوهش در انتهای دوره نگهداری کمترین میزان PH در پلاسما ۴۰ ثانیه مشاهده شد که می‌تواند به دلیل کنترل آلودگی باشد زیرا آلودگی قارچی منجر به قلیایی شدن محیط می‌گردد. بیشترین میزان TSS نیز در زمان‌های مورد بررسی در شاهد و پلاسمای ۴۰ ثانیه مشاهده شد. بالاتر بودن میزان TSS شاهد و پلاسمای ۴۰ ثانیه می‌تواند به‌ترتیب به دلیل افت وزن ناشی از گسترش آلودگی (در شاهد) و خروج رطوبت ناشی از آسیب به بافت محل اتصال دم به میوه (در پلاسما ۴۰ ثانیه) باشد. این کاهش رطوبت منجر به افزایش ظاهری شاخص TSS می‌شود.

تحقیقات صورت‌گرفته در ارتباط با تاثیر پلاسما سرد بر خواص شیمیایی محصول نشان داده است که تاثیر پلاسما عموما بر خواص ویژگی‌های سطحی محصول بوده و در ولتاژ و مدت زمان مناسب تاثیری بر خواص شیمیایی درونی محصول ندارد (Hu *et al.*, 2021). در بلوبری پلاسما کمتر از ۱۵ دقیقه پس از ۱۰ روز و در توت‌فرنگی، ۱۵ دقیقه پلاسما سرد همراه با بسته‌بندی پس از ۵ روز نگهداری بر میزان pH و TSS تاثیری نداشته است (Hu *et al.*, 2021; Rana *et al.*, 2020). پژوهش‌های صورت‌گرفته در محصولاتی نظیر قارچ، گوجه‌فرنگی، کیوی، آب پرتقال و سیب نیز نشان داد پلاسما تاثیری بر میزان pH ندارد (Dasan & Boyaci, 2018; Misra *et al.*, 2014; Ramazzina *et al.*, 2015).

جدول ۳- تاثیر سطوح مختلف پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) بر خواص شیمیایی انگور (pH، TSS و TA) طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

Table 3- Chemical parameters (pH, TSS, and TA) of grapes after cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage at 4°C

شاخص‌های شیمیایی Chemical parameters	مدت زمان تیمار Treatment time (s)	زمان انبارداری Storage time (Week)		
		1	2	3
pH	0	3.96^{bc}	4.16^{b}	4.30^{a}
	10	3.98^{bc}	4.2^{ab}	4.28^{ab}
	20	3.98^{bc}	4.17^{b}	4.23^{ab}
	40	3.82^{d}	3.91^{c}	3.98^{bc}
TSS	0	20.97^{e}	22.78^{b}	23.45^{a}
	10	20.10^{g}	21.72^{cd}	23.20^{ab}
	20	20.18^{g}	21.80^{cd}	23.28^{ab}
	40	21.30^{de}	22.06^{c}	23.86^{a}
TA	0	0.76^{cde}	0.74^{de}	0.67^{f}
	10	0.85^{b}	0.78^{cd}	0.70^{ef}
	20	0.85^{b}	0.78^{cd}	0.76^{de}
	40	0.93^{a}	0.88^{ab}	0.81^{bc}

حروف a تا g نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Data presented as mean ± SD. Values in the same column followed by different letters (a–g) are significantly different ($P \leq 0.05$).

تاثیر پلاسما سرد بر دمای سطحی محصول

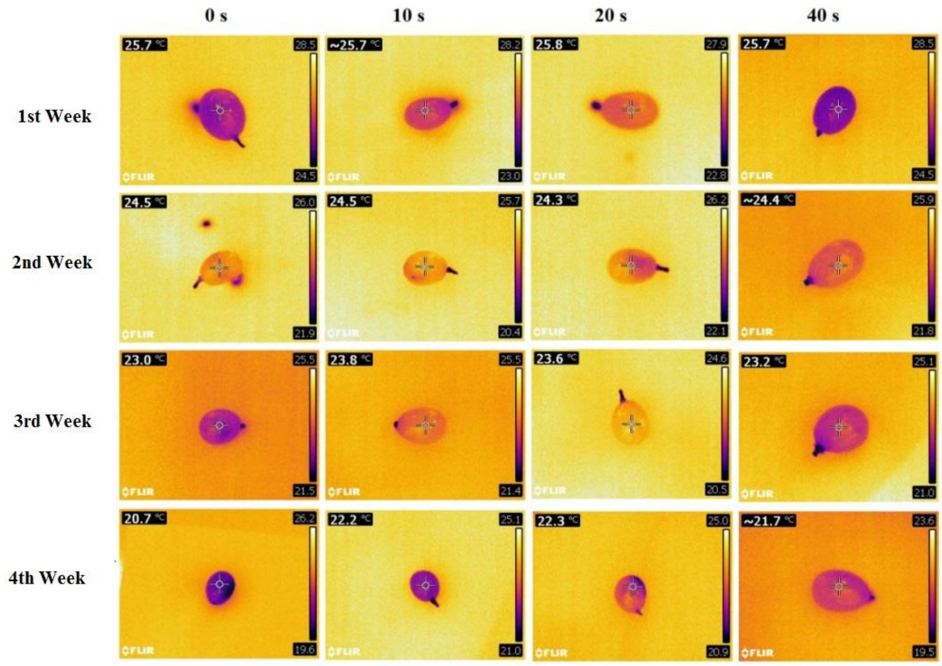
اعمال پلاسما همراه با تولید انرژی و گرما می‌باشد لذا اندازه‌گیری دمای سطح محصول اهمیت دارد. همان‌طور که در شکل ۴ نشان داده شده است طی دوره نگهداری و در سطوح مختلف پلاسما، دمای محصول کاهش یافت. در هفته اول و دوم آزمایش بین سطوح مختلف پلاسما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما در هفته سوم میانگین دما بین سطوح پلاسما به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در هفته چهارم کمترین میزان دما در تیمار شاهد (۲۰/۷ درجه سانتی‌گراد) و بیشترین دما در پلاسمای ۱۰ ثانیه و ۲۰ ثانیه (۲۳/۳ درجه سانتی‌گراد) مشاهده شد. لذا بیشترین و کمترین تغییرات افت دما به‌ترتیب در تیمار شاهد (۵ درجه سانتی‌گراد) و پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه (بین ۳ تا ۳/۵ درجه سانتی‌گراد) صورت گرفت (شکل ۵).

بر اساس تحقیقات صورت‌گرفته افت وزن و کاهش رطوبت محصول طی دوره نگهداری باعث کاهش دمای محصول نیز می‌شود. از سوی دیگر افزایش آلودگی‌های قارچی منجر به کاهش رطوبت و افزایش افت وزن و به دنبال آن کاهش دمای محصول می‌گردد. در تحقیق حاضر نیز کاهش دما پس از ۴ هفته در شاهد به دلیل گسترش آلودگی و افت وزن و در پلاسما ۴۰ ثانیه به دلیل افت وزن ناشی از اثر تخریبی پلاسما بالاتر بود. در حالی‌که کمترین میزان افت دما در تیمار ۱۰ و ۲۰ ثانیه صورت گرفت. در مجموع نتایج نشان داد هرچه میزان تخریب بافت وکاهش رطوبت بالاتر باشد، دما بیشتر کاهش می‌یابد. همچنین هر عاملی که منجر به پیری محصول و گسترش آلودگی گردد دمای آن را نیز کاهش می‌دهد (Chelladurai, Jayas, & White, 2010; Hellebrand, Beuche, & Linke, 2002; Varith, Hyde, Baritelle,

Fellman, & Sattabongkot, 2003).

تاثیر پلاسمای سرد بر خواص مکانیکی انگور

بر اساس جدول ۴ روند کاهشی در مدول الاستیسیته، نیروی نفوذ و کار نفوذ (W) طی دوره نگهداری در شاهد و تمامی زمان‌های اعمال پلاسما مشاهده شد. تا هفته دوم دوره نگهداری تفاوت معنی‌داری بین شاهد و زمان‌های مختلف پلاسما در شاخص نیروی نفوذ مشاهده نشد. اما در این زمان مدول الاستیسیته و کار نفوذ در پلاسما ۴۰ ثانیه (به‌ترتیب ۰/۰۱۴۲ و ۱۹/۷۲) در مقایسه با شاهد (به‌ترتیب ۰/۰۱۵۵ و ۲۲/۶۲) و سایر زمان‌های پلاسما به‌طور معنی‌داری کمتر بود. این روند در ارتباط با هر سه شاخص در هفته سوم تغییر کرد و کمترین میزان در شاخص‌های مکانیکی بدون اختلاف معنی‌دار برای شاهد و پلاسما ۴۰ ثانیه صورت گرفت.



شکل ۵- تصاویر حرارتی از انگور تیمارشده با پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) طی انبارداری (۱ تا ۴ هفته) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

Fig.5. Thermal images of grapes after cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage (1 to 4 weeks) at 4°C

ویژگی بافت محصول یکی از مهم‌ترین پارامترهای کیفی در ارزیابی عمر ماندگاری انگور می‌باشد. طی دوره انبارداری و در اثر فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی از بین رفته و میوه نرم می‌شود. کاهش وزن و از دست رفتن رطوبت محصول نیز می‌تواند منجر به تسریع فرایند پیری و کاهش خواص مکانیکی گردد. گسترش پوسیدگی قارچی نیز تخریب دیواره سلولی، کاهش سفتی و در نهایت فرایند پیری را افزایش می‌دهد (Rux *et al.*, 2015).

کاهش شاخص‌های مکانیکی نظیر مدول الاستیسیته و نیروی نفوذ نشان‌دهنده کاهش کیفیت و نرمی محصول طی دوره نگهداری می‌باشد. در پژوهش حاضر نیز طی انبارداری و با گسترش آلودگی در نمونه شاهد شاخص‌های مکانیکی کاهش یافت. در توت‌فرنگی تیمارشده با پلاسما نیز به دلیل کنترل پوسیدگی قارچی در مقایسه با شاهد بافت سفت‌تری داشتند (Misra *et al.*, 2014). در این تحقیق کمترین میزان شاخص‌ها در پلاسما ۴۰ ثانیه صورت گرفت در حالی‌که در پلاسمای کمتر از ۲۰ و شاهد تا اواسط دوره نگهداری تفاوتی نداشتند. بر اساس گزارش میرسا و همکاران (Misra *et al.*, 2014) اعمال پلاسما می‌تواند سفتی بافت را کاهش دهد. لذا بهینه‌سازی مدت و شدت آن بسیار اهمیت دارد (Pan, Cheng, & Sun, 2021) تحقیقات صورت‌گرفته نشان می‌دهد اعمال سطوح مناسب پلاسما بر برشی‌های طالبی، کیوی، سیب، بلوبری و توت‌فرنگی تاثیری بر سفتی بافت نداشته است (Hu *et al.*, 2021; Ramazzina *et al.*, 2015; Tappi *et al.*, 2016; Zhou, Li, Cong, Suo, & Wu, 2022; Ziuzina *et al.*, 2020). اما افزایش مدت زمان اعمال پلاسما و سطوح نامناسب آن باعث کاهش سفتی در توت‌فرنگی شد (Aday, Büyükcan, Temizkan, & Caner, 2013). در بلوبری تیمار پلاسمای سرد کمتر از ۱۵ دقیقه تاثیری بر سفتی بافت نداشت اما ۲۰ دقیقه پلاسما منجر به نرمی میوه

شد (Hu *et al*., 2021). در مجموع به نظر می‌رسد در تحقیق حاضر به دلیل گسترش آلودگی در نمونه شاهد و در انتهای آزمایش و در پلاسمای ۴۰ ثانیه به دلیل تخریب بافت و خروج رطوبت از محل اتصال دم به میوه، سفتی محصول کاهش می‌یابد.

جدول ٤- شاخص‌های مکانیکی (Emod, Fmax and W) در انگور تیمارشده با پلاسما (صفر، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ ثانیه) طی دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

Table 4- Mechanical parameters (Emod, Fmax, and W) of grapes with cold plasma treatment (0, 10, 20, and 40 s) during storage at 4 °C

شاخص‌های مکانیکی Mechanical parameters	مدت زمان تیمار Treatment time (s)	مدت زمان انبارداری Storage time (Week) 1	2	3
Emod	0	0.0177[ab]	0.0155[cd]	0.0123[f]
	10	0.0169[ab]	0.0156[cd]	0.0157[cd]
	20	0.018[a]	0.0156[cd]	0.0154[d]
	40	0.0166[bc]	0.0142[e]	0.0125[f]
Fmax	0	8.35[a]	5.25[cd]	5.14[d]
	10	7.91[ab]	5.36[cd]	5.51[cd]
	20	6.64[bc]	6.64[bc]	5.88[cd]
	40	6.31[c]	5.44[cd]	5.16[d]
W	0	27.95[ab]	22.62[c]	15.63[f]
	10	27.7[ab]	22.26[c]	17.81[e]
	20	28.21[a]	22.21[c]	17.42[e]
	40	26.55[b]	19.72[d]	15.3[f]

حروف a تا f نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

Data presented as mean ± SD. Values in the same column followed by different letters (a–f) are significantly different ($P \leq 0.05$).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر نشان داد که تیمار پلاسمای سرد در فشار اتمسفر یک روش پس از برداشت موثر در کنترل پوسیدگی سیاه حاصل از قارچ *آسپرژیلوس نایجر* همراه با حفظ ویژگی‌های کیفی انگور طی ۳ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. با این حال شایان ذکر است که مدت زمان تیمار پلاسمای سرد در فشار اتمسفر بر حفظ کیفیت انگور در دوره نگهداری اهمیت دارد چرا که افزایش مدت زمان می‌توان باعث کاهش برخی از پارامترهای کیفی محصول انگور شود. بالاترین میزان کنترل پوسیدگی سیاه در پلاسما ۴۰ ثانیه صورت رفت. در حالی‌که به دلیل آسیب به بافت میوه در این تیمار کیفیت میوه کاهش یافت. در تیمار پلاسمای ۱۰ و ۲۰ ثانیه کمترین میزان تغییرات در خواص فیزیکی، شیمیایی و مکانیکی صورت گرفت و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. اما در ارتباط با کنترل پوسیدگی سیاه پلاسما ۲۰ ثانیه کارآمدتر بود. در مجموع با توجه به ساختار انگور اعمال پلاسما باید در مدت زمان مناسبی صورت گیرد تا علاوه بر کنترل بیماری به بافت میوه نیز آسیب نرسد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه بوعلی سینا برای تأمین اعتبار این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

مشارکت نویسندگان

علی خلج: جمع‌آوری داده‌ها، اعتبارسنجی

ابراهیم احمدی: نظارت و مدیریت، پردازش داده‌ها

سهیلا میرزایی: مشاوره فنی

فهیمه قائمی‌زاده: تحلیل آماری، تهیه متن اولیه

روزبه عباس‌زاده: مشاوره فنی

Rreferences

1. Aday, M. S., Büyükcan, M. B., Temizkan, R., & Caner, C. (2013). Role of ozone concentrations and exposure times in extending the shelf life of strawberry. *Ozone: Science and Engineering*, *36*(1), 43-56. https://doi.org/10.1080/01919512.2013.833851
2. Arfaoui, M., Vallance, J., Bruez, E., Rezgui, A., Melki, I., Chebil, S., & Rey, P. (2019). Isolation, identification, and in vitro characterization of grapevine rhizobacteria to control ochratoxigenic *Aspergillus spp*. on grapes. *Biological Control*, *129*, 201-211. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.019
3. Bermúdez-Aguirre, D., Wemlinger, E., Pedrow, P., Barbosa-Cánovas, G., & Garcia-Perez, M. (2013). Effect of

atmospheric pressure cold plasma (APCP) on the inactivation of *Escherichia coli* in fresh produce. *Food Control, 34*(1), 149-157. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.04.022

4. Bourke, P., Ziuzina, D., Boehm, D., Cullen, P. J., & Keener, K., (2018). The potential of cold plasma for safe and sustainable food production. *Trends in Biotechnology*, *36*(6), 615-626. https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2017.11.001
5. Butscher, D., Zimmermann, D., Schuppler, M., & Von Rohr, P. R. (2016). Plasma inactivation of bacterial endospores on wheat grains and polymeric model substrates in a dielectric barrier discharge. *Food Control*, *60*, 636-645. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.003
6. Chelladurai, V., Jayas, D. S., & White, N. D. G. (2010). Thermal imaging for detecting fungal infection in stored wheat. *Journal of Stored Products Research*, *46*(3), 174-179. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.04.002
7. Crisosto, C. H. (2002). Mitchell, F.G. Postharvest Handling Systems: Table grapes. *In Postharvest Technology of Horticultural Crops*; Kader, A.A., Ed.; University of California Agricultural and Natural Resources Pub: Davis, CA, USA. pp. 357-363.
8. Dasan, G. B., & Boyaci, I. H. (2018). Effect of cold atmospheric plasma on inactivation of Escherichia coli and physicochemical properties of apple, orange, tomato juices, and sour cherry nectar. *Food and Bioprocess Technology, 11*(2), 334-343. https://doi.org/10.1007/s11947-017-2014-0
9. De Simone, N., Pace, B., Grieco, F., Chimienti, M., Tyibilika, V., Santoro, V., & Russo, P. (2020). Botrytis cinerea and table grapes: A review of the main physical, chemical, and bio-based control treatments in post-harvest. *Foods, 9*(9), 1138. https://doi.org/10.3390/foods9091138
10. Dobrynin, D., Fridman, G., Friedman, G., & Fridman, A. (2009). Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. *New Journal of Physics*, *11*, 115020. https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115020
11. Dong, X. Y., & Yang, Y. L. (2019). A novel approach to enhance blueberry quality during storage using cold plasma at atmospheric air pressure. *Food and Bioprocess Technology, 12*(8), 1409-1421. https://doi.org/10.1007/s11947-019-02305-y
12. Duarte-Sierra, A., Aispuro-Hernández, E., Vargas-Arispuro, I., Islas-Osuna, M. A., González-Aguilar, G. A., & Martínez-Téllez, M. Á. (2016). Quality and PR geneexpression of table grapes treated with ozone and sulfur dioxide to control fungal decay. *Journal of Science and Food Agriculture*, *96*, 2018-2024. https://doi.org/10.1002/jsfa.7312
13. FAO. (2021). http://www.faostat.fao.org/. Access date 24 March 2023.
14. Fernandez, A., Noriega, E., & Thompson, A. (2013). Inactivation of Salmonella enterica serovar Typhimurium on fresh produce by cold atmospheric gas plasma technology. *Food Microbiology*, *33*(1), 24-29. https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.08.007
15. Gabler, F. M., & Smilanick, J. L. (2001). Postharvest control of table grape gray mold on detached berries with carbonate and bicarbonate salts and disinfectants. *American Journal of Enology and Viticulture*, *52*, 12-2. https://doi.org/10.5344/ajev.2001.52.1.12
16. Ghorashi, A. H., Tasouji, M. R., & Kargarian, A. (2020). Optimum cold plasma generating device for treatment of *Aspergillus flavus* from nuts surface. *Journal of Food Science and Technology*, *57*, 3988-3994. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04429-y
17. Hellebrand, H. J., Beuche, H., & Linke, M. (2002). Thermal imaging: A promising high-tec method in agriculture and horticulture. *Physical Methods in Agriculture: Approach to Precision and Quality*, 411-427. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0085-8_22
18. Himelrick, D. G. (2003). Handling, storage and postharvest physiology of Muscadine grapes: A review. *Small Fruits Review*, *2*(4), 45-62. https://doi.org/10.1300/J301v02n04_06
19. Hu, X., Sun, H., Yang, X., Cui, D., Wang, Y., Zhuang, J., & Jiao, Z. (2021). Potential use of atmospheric cold plasma for postharvest preservation of blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, *179*, 111564. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111564
20. Jayasena, D. D., Kim, H. J., Yong, H. I., Park, S., Kim, K., Choe, W., & Jo, C. (2015). Flexible thin-layer dielectric barrier discharge plasma treatment of pork butt and beef loin: Effects on pathogen inactivation and meat-quality attributes. *Food Microbiology*, *46*, 51-57. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.07.009
21. Kader, A. A., & Watkins, C. B. (2000). Modified atmosphere packaging-toward 2000 and beyond. *HortTechnology*, *10*(3), 483-486. https://doi.org/10.21273/HORTTECH.10.3.483
22. Kasfi, K., Taheri, P., Jafarpour, B., & Tarighi, S. (2018). Characterization of antagonistic microorganisms against *Aspergillus spp*. from grapevine leaf and berry surfaces. *Journal of Plant Pathology*, *100*, 179-190. https://doi.org/10.1007/s42161-018-0042-x
23. Khodamoradi, S., & Ahmadi, E. (2019). Effect of Chitosan Coating on Physical, Mechanical and Chemical Properties of Grapes during Storage. *Journal of Agricultural Machinery*, *9*(2), 347-364. (In Persian). https://doi.org/10.22067/jam.v9i2.69423
24. Lacombe, A., Niemira, B. A., Gurtler, J. B., Fan, X. T., Sites, J., Boyd, G., & Chen, H. Q. (2015). Atmospheric

cold plasma inactivation of aerobic microorganisms on blueberries and effects on quality attributes. *Food Microbiology*, *46*, 479-484. https://doi.org/10.1016/ j.fm.2014.09.010

25. Lu, S. L., Yang, X. Z., Li, X. H., Shen, L. M., & Ma, H. Y. (2013). Effect of sulfur dioxide treatment on storage quality and SO_2 residue of victoria grape. *Advanced Materials Research*, *798*, 1033-1036. https://www.scientific.net/AMR.798-799.1033
26. Ma, R. N., Yu, S., Tian, Y., Wang, K. L., Sun, C. D., Li, X., Zhang, J., Chen, K. S., & Fang, J. (2016). Effect of non-thermal plasma-activated water on fruit decay and quality in postharvest Chinese bayberries. *Food Bioprocess Technology*, *9*(11), 1825-1834. https://doi.org/10.1007/s11947-016-1761-7
27. Meng, X. H., Qin, G. Z., & Tian, S. P. (2010). Influences of preharvest spraying Cryptococcus laurentii combined with postharvest chitosan coating on postharvest diseases and quality of table grapes in storage. *LWT-Food Science and Technology*, *43*(4), 596-601. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.10.007
28. Min, S. C., Roh, S. H., Niemira, B. A., Boyd, G., Sites, J. E., Fan, X., Sokorai, K., & Jin, T. Z. (2018). In-package atmospheric cold plasma treatment of bulk grape tomatoes for microbiological safety and preservation. *Food Research International*, *108*, 378-386. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.033
29. Misra, N. N., Keener, K. M., Bourke, P., Mosnier, J. P., & Cullen, P. J. (2014). In-package atmospheric pressure cold plasma treatment of cherry tomatoes. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *118*(2), 177-182. https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2014.02.005
30. Olivas, G. I., & Barbosa-Cánovas, G. (2009). *Edible films and coatings for fruits and vegetables*: In: Huber, K., Embuscado, M. (eds), Edible films and coatings for food applications, Springer, New York, pp. 211-244. NY. https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1_7
31. Oliver, R. P., & Hewitt, H. G. (2014). *Fungicides in crop protection*. Published by Cabi.
32. Ott, L. C., Appleton, H. J., Shi, H., Keener, K., & Mellata, M. (2021). High voltage atmospheric cold plasma treatment inactivates *Aspergillus flavus* spores and deoxynivalenol toxin. *Food Microbiology*, *95*, 103669. https://doi.org/10.1016/j.fm.2020.103669
33. Pan, Y. W., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2021). Inhibition of fruit softening by cold plasma treatments: Affecting factors and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *61*(12), 1935-1946. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1776210
34. Pasquali, F., Stratakos, A. C., Koidis, A., Berardinelli, A., Cevoli, C., Ragni, L., Mancusi, R., Manfreda, G., & Trevisani, M. (2016). Atmospheric cold plasma process for vegetable leaf decontamination: A feasibility study on radicchio (red chicory, *Cichorium intybus* L.). *Food Control*, *60*, 552-559. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.043
35. Pezzuto, J. M. (2008). Grapes and human health: a perspective. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(16), 6777-6784. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf800898p
36. Ponsone, M. L., Chiotta, M. L., Combina, M., Dalcero, A., & Chulze, S. (2011). Biocontrol as a strategy to reduce the impact of ochratoxin A and *Aspergillus* section Nigri in grapes. *International Journal of Food Microbiology*, *151*(1), 70-77. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.08.005
37. Ramazzina, I., Berardinelli, A., Rizzi, F., Tappi, S., Ragni, L., Sacchetti, G., & Rocculi, P. (2015). Effect of cold plasma treatment on physico-chemical parameters and antioxidant activity of minimally processed kiwifruit. *Postharvest Biology and Technology*, 107, 55-65. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2015.04.008
38. Rana, S., Mehta, D., Bansal, V., Shivhare, U. S., & Yadav, S. K. (2020). Atmospheric cold plasma (ACP) treatment improved in-package shelf-life of strawberry fruit. *Journal of Food Science and Technology*, *57*, 102-112. https://doi.org/10.1007/s13197-019-04035-7
39. Rux, G., Mahajan, P., Linke, M., Saengerlaub, S., Pant, A., Caleb, O., & Geyer, M. (2015). Application of humidity-regulating trays for packaging of fresh strawberry and tomato. *In III International Conference on Fresh-Cut Produce: Maintaining Quality and Safety*, *1141*, 263-268. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1141.32
40. Sanchez-Ballesta, M. T., Alvarez, I., Escribano, M. I., Merodio, C., & Romero, I. (2020). Effect of high CO_2 levels and low temperature on stilbene biosynthesis pathway gene expression and stilbenes production in white, red and black table grape cultivars during postharvest storage. *Plant Physiology and Biochemistry*, *151*, 334-341. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.03.049
41. Selcuk, M., Oksuz, L., & Basaran, P. (2008). Decontamination of grains and legumes infected with *Aspergillus* spp. and Penicillum spp. by cold plasma treatment. *Bioresource Technology*, *99*(11), 5104-5109. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.076
42. Song, A. Y., Oh, Y. J., Kim, J. E., Song, K. B., Oh, D. H., & Min, S. C. (2015). Cold plasma treatment for microbial safety and preservation of fresh lettuce. *Food Science and Biotechnolgy*, *24*, 1717-1724. https://doi.org/10.1007/s10068-015-0223-8
43. Tappi, S., Gozzi, G., Vannini, L., Berardinelli, A., Romani, S., Ragni, L., & Rocculi, P. (2016). Cold plasma treatment for fresh-cut melon stabilization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *33*, 225. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.12.022
44. Varith, J., Hyde, G. M., Baritelle, A. L., Fellman, J. K., & Sattabongkot, T. (2003). Noncontact bruise detection in

apples by thermal imaging. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *4*(2), 211-218. https://doi.org/10.1016/S1466-8564(03)00021-3

45. Wiktor, A., Hrycak, B., Jasinski, M., Rybak, K., Kieliszek, M., Krasniewska, K., & Witrowa- Rajchert, D. (2020). Impact of atmospheric pressure microwave plasma treatment on quality of selected spices. *Applied Sciences-Basel, 10* (19), 6815. https://doi.org/10.3390/app10196815
46. Xu, H. B., Ma, R. N., Zhu, Y. P., Du, M. R., Zhang, H., & Jiao, Z. (2020). A systematic study of the antimicrobial mechanisms of cold atmospheric-pressure plasma for water disinfection. *Science of Total Environment*, *703*, 134965 https://doi.org/10.1016/j. scitotenv.2019.134965
47. Xu, H. B., Zhu, Y. P., Du, M. R., Wang, Y. Q., Ju, S. Y., Ma, R. N., & Jiao, Z. (2021). Subcellular mechanism of microbial inactivation during water disinfection by cold atmospheric-pressure plasma. *Water Research*, *188*, 116513 https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116513
48. Zahavi, T., Cohen, L., Weiss, B., Schena, L., Daus, A., Kaplunov, T., & Droby, S. (2000). Biological control of *Botrytis*, *Aspergillus* and *Rhizopus* rots on table and wine grapes in Israel. *Postharvest Biology and Technology, 20*(2), 115-124. https://doi.org/10.1016/S0925-5214(00)00118-6
49. Zhou, D., Li, T., Cong, K., Suo, A., & Wu, C. (2022). Influence of cold plasma on quality attributes and aroma compounds in fresh-cut cantaloupe during low temperature storage. *Food Science and Technology, 154*, 112893. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112893
50. Ziuzina, D., Misra, N. N., Han, L., Cullen, P. J., Moiseev, T., Mosnier, J. P., & Bourke, P. (2020). Investigation of a large gap cold plasma reactor for continuous in-package decontamination of fresh strawberries and spinach. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 59,* 102229. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102229
51. Ziuzina, D., Patil, S., Cullen, P. J., Keener, K. M., & Bourke, P. (2014). Atmospheric cold plasma inactivation of Escherichia coli, Salmonella enterica serovar Typhimurium and Listeria monocytogenes inoculated on fresh produce. *Food Microbiology, 42*, 109-116. https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.02.007